

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ CYP4 И CYP6 КОЛОРАДСКОГО ЖУКА, ИГРАЮЩИХ
ВАЖНУЮ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ К ИНСЕКТИЦИДАМ**

К.В. Аргер, 3 курс

МГПУ им. И.П. Шамякина

Научный руководитель – М.М. Воробьева, к.б.н., доцент

Полесский государственный университет

На протяжении многих лет единственным действенным способом контроля численности насекомых – вредителей сельскохозяйственных культур было применение инсектицидов. В 2013 г. на территории Европейского союза ввели запрет на использование ряда препаратов из группы неоникотиноидов, что обусловлено сокращением численности опылителей, тем не менее, в Беларуси инсектициды по-прежнему широко используют.

В последние годы получены данные о том, что насекомые способны формировать устойчивость к инсектицидам, однако, на сегодняшний день, этот механизм плохо изучен. Высказаны предположения о существовании нескольких путей для объяснения данного механизма, в частности, мутации в генах, кодирующих молекулы, на которые направлено действие инсектицидов; изменение белков системы детоксикации; изменение экспрессии генов, кодирующих белки системы детоксикации, либо увеличение количества копий генов системы детоксикации в геноме [1]. Кроме того, у насекомых возможно изменение структуры кутикулы, что способствует снижению проницаемости при контакте с инсектицидами [2].

В рамках настоящего исследования мы оценили полиморфизм генов CYP450 у имаго колорадского жука на основе данных о нуклеотидных последовательностях, представленных в NCBI [3], поскольку именно эта группа ферментов играет наиболее значительную роль в адаптации насекомых к жизни в среде, насыщенной токсинами различного происхождения [4].

Всего проанализировали 99 последовательностей генов CYP4 и CYP6 колорадского жука. Последовательности выравнивали в программе MEGA7 поочередным использованием алгоритмов Muscle и Clustal, а деревья построили с использованием программы БИСТА.

Сравнительный анализ последовательностей белок-кодирующих областей генов CYP4 показал, что они различаются по количеству копий и по длине. Большим числом копий представлены гены CYP4BN13, CYP4C1 и CYP4C3. Для оценки их варибельности провели сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей данных генов и рассчитали парные дистанции между ними. Оказалось, что гены CYP4C3 и CYP4C1 имели высокие показатели значений генетических дистанций, что указывает на высокий уровень внутривидового генетического полиморфизма.

На основе нуклеотидных последовательностей генов CYP4 построили дендрограмму и установили, что гены CYP4A5, CYP4C3, CYP4D2, CYP4C1, CYP4BN13, CYP4BN14, CYP4Q11 CYP4BN12 (кластер 1), гены CYP4BN12, CYP4Q11, CYP4BN14, CYP4C1, CYP4C3, CYP4BN13 (кластер 2) и гены CYP4AA1, CYP4Q10, CYP4G34, CYP4G29, CYP4AC1, CYP4S3, CYP4V2, CYP4D8, CYP4D2, CYP4G15, CYP4CW1, CYP4BN15, CYP4G58 и CYP4G57 (кластер 3), вошедшие в один кластер, образовались в процессе дупликации исходных генов. Оценивая дерево в целом, можно заключить, что последовательности CYP4 у имаго колорадского жука характеризуются высоким уровнем варибельности.

Аналогичным образом мы оценили варибельность последовательностей белок-кодирующих областей CYP6 у имаго колорадского жука. Сравнительный анализ последовательностей белок-кодирующих областей генов CYP6 показал, что эти гены также разнятся по количеству копий, а копии генов значительно варьируются по длине. Гены CYP6A23 и CYP6K1LIKE имели большое число копий в сравнении с остальными генами и характеризовались высоким уровнем внутривидового генетического полиморфизма.

На основе анализа нуклеотидных последовательностей генов CYP6 построили дендрограмму. Один кластер включил гены CYP6BJ1V, CYP6BJ2, CYP6A23, CYP6A2LIKE, CYP6K1LIKE, CYP6A13, CYP6A8, CYP6EG1, CYP6EF1, CYP6BD16, второй кластер – CYP6A23, CYP6K1LIKE, CYP6A14, CYP6EF1 (также вошли в первый кластер), CYP6A13, CYP6BJ3, CYP6BD17, CYP6BD15, CYP6BD19, CYP6BD20 и CYP6LIKE, третий кластер – CYP6BJ1V, CYP6A2LIKE, CYP6A8 (также образовали первый кластер), CYP6A23, CYP6K1LIKE, CYP6A13 (также образовали первый и второй кластер), CYP6BU1, CYP6BN1V, CYP6D4, CYP6EN1, CYP6ED1, CYP6BD18 и CYP6BN2, что указывает на то, что гены, вошедшие в один кластер, образовались в процессе дупликации исходных генов. Оценивая дерево в целом, можно заключить, что последовательности CYP6 у имаго колорадского жука также как и CYP4 обладают высоким уровнем варибельности.

Можно заключить, что нуклеотидные последовательности генов CYP450 как 4-го, так и 6-го семейства характеризуются высоким внутривидовым генетическим полиморфизмом, в частности, среди генов 4-го семейства более варибельными оказались CYP4C3 и CYP4C1, а 6-го семейства – CYP6A23 и CYP6K1LIKE. Можно предположить, что увеличение числа копий этих генов обусловлено формированием устойчивости к действующим веществам инсектицидов.

Список использованных источников

1. Воронова, Н.В. Цитохромы р450 у тлей: роль коэволюции с растениями в формировании устойчивости насекомых к инсектицидам / Н.В. Воронова // Труды БГУ. – 2016. – Том 11, часть 2. – С. 92–110.
2. Feyereisen, R. Molecular biology of insecticide resistance / R. Feyereisen // Toxicol. Lett. – 1995 – Vol. 82, N. 3. – P. 83–90.
3. GenBank Overview [Electronic resource] / GenBank Overview. – USA, 2017. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>. – Data of access: 05.03.2021.
4. Feyereisen, R. Insect CYP Genes and P450 Enzymes / R. Feyereisen // Insect molecular biology and biochemistry / ed. L. I. Gilbert. – Elsevier, 2012, Ch. 8. – P. 236–295.